рии изданий «Консервация генетических ресурсов», НЦБИ АН СССР, Пущино, 1984,24с.
7 Консервация генетических ресурсов (Матсриалы14 рабочего совещания 28-30 мая 1996, Пущино). Пущино, ИБК РАН, 1996,170с.
8. Консервация генетических ресурсов (Материалы 15 рабочего совещания 28-30 мая 1996, Пущино). Пущино, ИБК РАН, 1998,276с.
9. Консервация генетических ресурсов (Материалы 16 рабочего совещания 13-15 октября 1998, Пущино). Биофизика живой клетки Т.7,2003, (http://cam.itcb.psn.ru/). Пущино, ИБК РАН, 1998,158с.
10. Gakhova E.N. Genetic cryobanks for conservation of biodiversity. The development and current status of this problem in Russia. Cryo-Letters, suppl. 1, 1998,64.
11 Эрнст Л.К., Виноградов М.Е.,Ананьев В.И.,Шхова Э.Н., Катасонов В.Я., Копейка Е.Ф., Манохина М.С, Ротт Н.Н., Цветкова Л.И. Опыт создания и реализации комплексной программы Б.Н. Вепринцева «Криобанк рыб» (1990-1996 гг.). В сб.: Консервация генетических ресурсов (Материалы XV рабочего совещания 13-15 октября 1998, Пущино). Пущино,1998, с.14-19.
12. Ananiev V I. Problems of conservation and stable employment of biological diversity with the use of deep freezing methods for hydrobionts. Floid et Aquaculture. Refrigeration and Aquaculture. Bordeaux, France., 1996, p.33-42.
13. О научных исследованиях по консервации генетических ресурсов. В серии изданий «Консервация генетических ресурсов», ред. Б.Н. Вепринцев,Т.И. Смолихина, НЦБИ АН СССР, Пущино, 1986,18с.
14. О научных исследованиях по консервации генетических ресурсов. В серии изданий «Консервация генетических ресурсов», ред. Н.Н.Ротт, ПНЦ РАН, Пущино, 1994,36.

Л.П. Дьяконов, Г.П. Пинаев
(ГНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко (ВИЭВ) РАСХН, Институт цитологии РАН)

ВСЕСОЮЗНАЯ (РОССИЙСКАЯ) КОЛЛЕКЦИЯ И КРИОБАНКИ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА - ХРАНИЛИЩЕ И ИСТОЧНИК ГЕНОФОНДНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Криобиологические методы - надежный способ длительного сохранения геномных материалов и их последующего использования в вирусологии, биотехнологии, клонировании животных и восстановлении видового разнообразия.

Мировой опыт, накопленный, специалистами коллекций клеточных культур (АТСС, ЕСАСС, национальных коллекций в развитых странах мира) показывает надежность хранения клеток при температуре жидкого азота (-196° С) с сохранением исходных биологических характеристик в течение многих десятилетий. Прекращение обменных процессов в клетках в условиях глубокого замораживания при соблюдении режимов хранения позволяет говорить о возможности неопределенного длительного сохранения геномных материалов.

Российская коллекция клеточных культур создана (1978-1982 гг.) на базе 9-ти специализированных коллекций:

1. Коллекция культур клеток позвоночных Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
2. Коллекция перевиваемых соматических клеток позвоночных. НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН, Москва
3. Коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных. Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р Коваленко, РАСХН, Москва
4. Коллекция клеточных линий человека и животных для исследований в области вирусологии. НИИ гриппа РАМН, Санкт-Петербург
5. Коллекция перевиваемых соматических клеток позвоночных медицинского назначения. Екатеринбургский НИИ вирусных инфекций МЗ РФ, Екатеринбург
6. Коллекция соматических клеток человека от больных наследственными заболеваниями. Медико-генетический научный центр, РАМН, Москва
7. Всероссийская коллекция постоянных линий клеток беспозвоночных. Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова, РАН, Москва
8. Всероссийская коллекция клеток высших растений. Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева, РАН, Москва
9. Коллекция генетически трансформированных pRi корней высших растений. Институт физиологии растений им, К.А. Тимирязева, РАН, Москва

Фонды Российской Коллекции насчи-

тывают более 1000 клеточных штаммов и линий клеток, в т.ч. около 700 – референтных линий, депонированных в связи с их патентованием. Более 170 линий имеют значение для биопромышленности (Каталог «Российская коллекция клеточных культур). За прошедшие годы (2002-2006 гг) количество клеточных культур значительно возрасло. Кроме этого, большое количество штаммов и линий клеток хранится в криобанках коллекций культур различных институтов, не входящих в Российскую Коллекцию Культур (институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.Д. Чумакова, г. Москва; институт ветеринарной вирусологии и микробиологии, г. Покров Владимирской области; институт защиты животных, п. Юрьевец Владимирской области; НПО «Вектор», г. Новосибирск и другие научно-исследовательские учреждения), а также в рабочих криобанках биопредприятий и фирм, производящих иммунобиологические препараты (вакцины, диагностикумы и др.)

Специализированная Коллекция постоянных клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных (СХЖ РАСХН) и Криобанк ВИЭВ выполняет важную роль в сохранении генофонда продуктивных и промысловых животных.

Уникальностью Коллекции является депонирование в ней штаммов и линии клеток, полученных исключительно из немалигнизированных тканей и органов от здоровых животных (плодов и молодняка), а также наличием гибридных культур клеток (внутривидовые и межвидовые) сельскохозяйственных животных и гибридома – продуцентов моноклональных антител. Всего в Коллекции и Криобанке хранятся культуры клеток от 17 видов животных – более 350 штаммов и линий клеток и более 3500 образцов хранения на различных пассажах культивирования.

В Каталоге СХЖ РАСХН, изданном в 2006 году приведены данные о культурах клеток, которые полностью охарактеризованы и сертифицированные (Л.П. Дьяконов, Т.В. Гальнбек, Г.Т. Акиншина и др., 2006). В настоящее время в Коллекции депонировано культур клеток из органов крупного рогатого скота – 10 штаммов, овец – 5, коз – 3, свиньи – 18, кролика – 9, лошади – 1, обезьяны – 2, собаки – 1, кошки – 3, мыши – 1, крысы – 1, сирийского хомячка – 3, насекомых – 1, рыб – 1 штамм, дефектные по ферментам: СПЭВ ТК-, ПО ТК-, ТРГФРТ- - 6 штаммов, гибридные культуры клеток с/х животных – 9 штаммов и 10 гибридом, продуктов МкАт к антигенам вирусов, микоплазм, прионов, к иммуноглобулинам, кроме того в Криобанке хранятся штаммы простейших – возбудителей болезней животных (трипаносомы, бабезии, тейлерии, анаплазмы и др.), аттенуированные и эпизоотические штаммы вирусов, бактерий. Кроме того, вирусы, бактерии и патогенные грибы хранятся в музеях профильных лабораторий.

Коллекция культур клеток с/х и промысловых животных (СХЖ РАСХН) должна стать основной коллекцией для депонирования генофондных материалов от племенных животных и редких и исчезающих видов диких теплокровных животных, рыб и других животных аквакультуры, а также планктона. Эта работа должна осуществляться на основе договоров о научном сотрудничестве с зоопарками, питомниками, региональными научными учреждениями. Такие договора заключены ВИЭВ с Московским Зоопарком, Бурятским Университетом.

Помимо изложенного можно отметить основные фундаментальные достижения Российской коллекции культур (РККК):

Получение постоянных линий эмбриональных стволовых клеток человека из предимплантационных бластоцист.

Продемонстрировано влияние белков внеклеточного матрикса на количественную и структурную кариотипическую изменчивость клеточных линий. (Коллекция Института цитологии РАН, Санкт-Петербург).

Использование культур клеток для токсико-экологических исследований. Разработанная методика прошла экспертизу в центре Стандартизации и широко используется в Уральском регионе. Исследуется влияни субтоксичных концентраций промышленных загрязнителей на развитие вирусной инфекции на клеточном уровне. Внедрены в практику культуры для клеточной терапии.

(Коллекция Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций МЗ РФ).

Созданы тест-системы: для индикации биологических загрязнений в окружающей среде; для идентификации патогенных для человека вирусных возбудителей. Показано влиянии биорезонансного электромагнитного излучения на рост ряда клеточных культур и репродукцию в них вирусов герпеса и гриппа. Установлено, что определенные частоты подавляют инфекционную активность вирусов, не влияя на жизнедеятельность клеток.

(Коллекция НИИ вирусологии им. Д. И.

Ивановского РАМН, Москва)

Участие в Международной программе по изучению распространения вирусов гриппа, обеспечивая вирусологов разных учреждений клеточной культурой МДСК – почка собаки, чувствительной к вирусам гриппа. Получение моноклональных антител к ряду вирусных белков. Разработан метод тестирования цитопротекторного действия антиоксидантов и антигипоксантов, способных снижать токсический эффект антивирусных препаратов Проводятся исследования по использованию фибробластов человека для лечения трофических язв.

(Коллекция НИИ гриппа РАМН, Санкт-Петербург).

Разработка методов выявления в культурах кроме микоплазменной контаминации, присутствия вирусов, и прионов. Разрабатываются методы сертификации в целях биобезопасности клеточного материала. Развивается новое направление – гибридизация и генетическая трансформация культур клеток сельскохозяйственных животных, для расширения вирусологических исследований и детекции прионов у с/животных. Обеспечение научных и диагностических лабораторий чувствительными к вирусам культурами клеток.

(Коллекция Всероссийского института экспериментальной ветеринарии им. Я. Р. Коваленко, РАСХН, Москва)

Создан криобанк эмбрионов рыб и насекомых. Создан криобанк спермы трутней из разных популяций медоносных пчел, Для сохранения биоресурсов в банк приняты спермы амурского тигра, дальневосточного леопарда и канадского журавля. Изучается спектр мобильных генетических элементов в постоянных линиях разных видов дрозофилы;

(Коллекция Института общей генетики им. Н. И. Вавилова, РАН, Москва).

Разработан способ получения «искусственных семян» растений с помощью капсулирования сегментов культивируемых корней в альгинате; Этот способ полезен как вариант stock culture для длительного сохранения корневых меристем и может быть и при размножении редких и трудно культивируемых растений.

(Коллекция генетически трансформированных корней высших растений Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева, РАН, Москва).

Исследование вторичных метаболитов в культурах клеток женьшеня, который обладает уникальными фармакологическими свойствами внутри своего рода - Panax

(Коллекция Института физиологии растений им. К. А.Тимирязева, РАН, Москва).

Изучение влияния окислительного стресса на культивируемые фибробласты здоровых доноров и больных ревматоидным артритом. Показана связь между геномной дозой активных рибосомных генов и способностью клеток выживать в условиях стресса.

(Коллекция Медико-генетического научного центра, РАМН, Москва).

Использование культур клеток для фундаментальных исследований, применение их в биотехнологии, вирусологии, фармакотоксикологии невозможно без полной характеристики культурально-морфологических, кариологических и генетических особенностей каждой конкретной культуры. При этом, в процессе субкультивирования и длительного хранения могут изменяться свойства культур, что требует постоянного научного мониторинга стабильности биологических свойств и постоянного контроля на возможную контаминацию патогенами, в частности латентными вирусами, прионами.

Следовательно, для нормального функционирования Коллекций культур клеток и их развития необходимы высококвалифицированные кадры, современное оборудование и реактивы, достаточное государственное финансирование, поскольку Коллекции культур являются национальным достоянием России и их утрата угрожает биобезопасности страны.

Кроме того, проблемы сохранения биоразнообразия в значительной мере могут быть разрешены использованием возможностей Коллекций культур, наличием у них криобанков и опыта работы по криобиологии.

Но Российская Коллекция и все ее 9 специализированных Коллекций не должны ограничивать свою деятельность только сохранением и развитием Коллекций культур клеток животных, человека, растений, включая проблемы сохранения генофонда живого мира.

По образцу функционирования Американской Коллекции типовых культур (АТСС) целесообразно изменить статус Российской Коллекции и внести в ее устав и устав Ассоциации специалистов по клеточным культурам положение о создании подразделений, депонирующих вирусы, бактерии, микроскопические грибы, простейшие, ДНК-пробы, рекомбинантные

плазмиды и другие носители генетической информации. Нужно депонировать также образцы спермы, ооциты, зиготы животных и человека. Это расширит деятельность Коллекции в плане проведения работ по сохранению генетических материалов, биобезопасности и бионезависимости страны.

Коллекции должны стать центрами методической подготовки и переподготовки специалистов по работе с культурами клеток, клеточной и генетической инженерии.

Важно сохранить деятельность Коллекции, как некоммерческой организации, пользующейся достаточным приоритетным государственным финансированием.

Необходимо выполнить решение Международной научной конференции «Сохранение генетических ресурсов» о создании Межрегионального криобиотехнологического центра генофондных материалов на базе Коллекции культур клеток и криобанка ВИЭВ, как некоммерческого партнерства. Целесообразно также создать научное общество «Сохранение генетических ресурсов».

Все это позволит решить многие проблемы биобезопасности страны и сохранения генофонда породных и сортовых ресурсов.

Литература

1. Российская Коллекция культур клеток. Каталог. Омск, 1999. на русском и английском языках.
2. Материалы Международной конференции «Сохранение генетических ресурсов» С.-Петербург. 19-22 октября 2004 г. Ж. Цитология 2004, том 46, №9
3. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных (РККК(П)), (СХЖ РАСХН). Каталог. 2-е издание (дополненное и уточненное) М. 2006, 115 стр., на русском и английском языках.
4. Каталог Коллекции клеточных культур ВНИИВВ и М. Покров, 2000, 78 стр.

УДК. 576.7:57.086.13:57.083

А.А. Цуцаева, В.И. Грищенко, Б.Т. Стегний, А.Е. Ананьина, О.С. Прокопюк, Е.В. Бровко, С.С. Черноусова, Н.И. Калиберда, Л.М. Балыбердина, Л.В. Сокол, Л.Г. Чернышенко, Е.С. Онасенко, Л.В. Степанюк

***(Институт** проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,*
***Институт** экспериментальной и клинической ветеренарной медицины УААН)*

КРИОБАНКИ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ БИООБЪЕКТОВ В МЕДИЦИНЕ, ВЕТЕРИНАРИИ И НА ЭТАПАХ БИОТЕХНОЛОГИИ

В настоящее время безальтернативным **способом долгосрочного** хранения биопрепаратов **является** криоконсервирование с **последующим хранением** в низкотемпературных банках в **жидком** азоте (-196° С) **или** в парах азота (-100° С).

Низкотемпературные банки, классифицируются по их целевому назначению: костного мозга, крови и ее компонентов, тканей человека и животных, клеточных культур и гибридом, низших и высших грибов, микроорганизмов, половые продукты человека и животных, вирусов, меристем растений, одноклеточных водорослей. Банк или система банков организуется по следующей схеме.

Низкотемпературные банки микроорганизмов. Цель – сохранение в течение неограниченного промежутка времени коллекционных культур, высокопродуктивных штаммов микроорганизмов, используемых на этапах биотехнологии, референтных штаммов микроорганизмов, штаммов, используемых в генной инженерии и для решения задач молекулярной биологии. Перед криоконсервированием и после него определяются свойства и продуктивная активность микроорганизмов, если таковая присутствует. При необходимости разрабатывается эффективный способ криоконсервирования, либо используется известный оптимальный для данного вида